

УДК [574.64+591.3]:597.54

Б.В. ЯКОВЕНКО, О.П. ТРЕТЯК, О.Б. МЕХЕД, С.М. ДЕРКАЧ, Н.В. ЧКАНА

Чернігівський національний педагогічний університет ім. Т.Г. Шевченка
вул. Гетьмана Полуботка, 53, Чернігів 14037, Україна

АКТИВНІСТЬ ДЕЯКИХ ФЕРМЕНТІВ У ПЕЧІНЦІ КОРОПА ЗА ДІЇ ГЕРБІЦИДІВ

Ключові слова: короп, зенкор, раундап, 2,4-Д, малатдегідрогеназа, ізоцитратдегідрогеназа, лактатдегідрогеназа, глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа

Вплив гербіцидів на метаболізм в організмі коропа різноманітний і залежить від багатьох чинників: параметрів середовища, віку риби, пори року тощо. Одним з механізмів регуляції метаболічних процесів є зміни активності окремих ферментів чи ферментних систем [1]. Нами було докладно вивчено зміни активності ферментів коропових риб (короп лускатий, товстолоб білий, білий амур) за дії гербіцидів *in vivo* [2]. Разом з тим маловідомо про активність ферментів за дії токсикантів на тканини і їх гомогенати *in vitro*. Порівняння змін активності ферментів за дії токсикантів на рівні організму, тканини печінки та ферментного препарату дозволить краще зрозуміти механізм впливу гербіцидів. Тому метою дослідження було з'ясувати вплив гербіцидів на активність деяких ферментів печінки коропа: гліколізу – лактатдегідрогенази (ЛДГ), циклу трикарбонових кислот – малатдегідрогенази (МДГ) та ізоцитратдегідрогенази (ЩДГ), а також пентозо-фосфатного шляху – глюкозо-6-фосфатдегідрогеназа (Г-6-ФДГ).

Матеріал і методи досліджень

Об'єктом дослідження були дворічні коропи (*Cyprinus carpio* L.), тканина печінки коропа та її гомогенат.

Досліди з вивчення впливу пестицидів проводили в 200-літрових акваріумах з відстояною водопровідною водою, в які розміщували рибу з розрахунку 1 екземпляр на 40 л води. Контролювали і підтримували постійний гідрохімічний режим води. Концентрацію досліджуваних пестицидів у акваріумах (2 гранично допустимі концентрації), створювали внесенням розрахованої кількості розчину бутилового ефіру 2,4-дихлорфеноксоцтової кислоти (2,4-Д) у льодяній оцтової кислоті (0,2 мг/дм³). Концентрація зенкору становила 0,2 мг/дм³ і досягалася внесенням 70 % – вого порошку зенкору. Концентрацію раундапу (0,004 мг/дм³) досягали внесенням у воду 36%-го розчину сполуки.

З метою дослідження токсичного впливу гербіцидів *in vitro* у гомогенат клітин печінки відповідні кількості гербіцидів вносили безпосередньо. Препарат тканини печінки одержували обробкою трипсином та ЕДТА з додаванням глюкози [4]. Токсиканти вносились у вигляді розчинів. Експозиція 3 години. Досліджували активність лактатдегідрогенази [5] та глюкозо-6-фосфатдегідрогенази у цитоплазматичній фракції, а ізоцитратдегідрогенази та малатдегідрогенази [5] – у мітохондріальній фракції. Вміст білків визначали за Лоурі і співавт. [6]. Статистична обробка результатів здійснена загальноприйнятими методами з використанням t-критерію Стьюдента. Відмінності між порівнюваними групами вважали вірогідними при $P < 0,05$.

Результати досліджень та їх обговорення.

Аналіз даних (рис. 1) показує незначне збільшення активності ЛДГ в печінці за дії токсикантів. Серед пестицидів найбільшу активацію ензиму викликає раундап (40%), а найменшу – 2,4-Д (16%). Присутність гербіцидів безпосередньо в реакційній суміші змінює активність ферменту неоднозначно: 2,4-Д і раундап активують ЛДГ, а зенкор, навпаки, гальмує її (0,203±0,071 мкмоль NAD/мг білку за хв. порівняно з контролем 0,230±0,071 мкмоль NAD*мг⁻¹білку*хв.⁻¹).

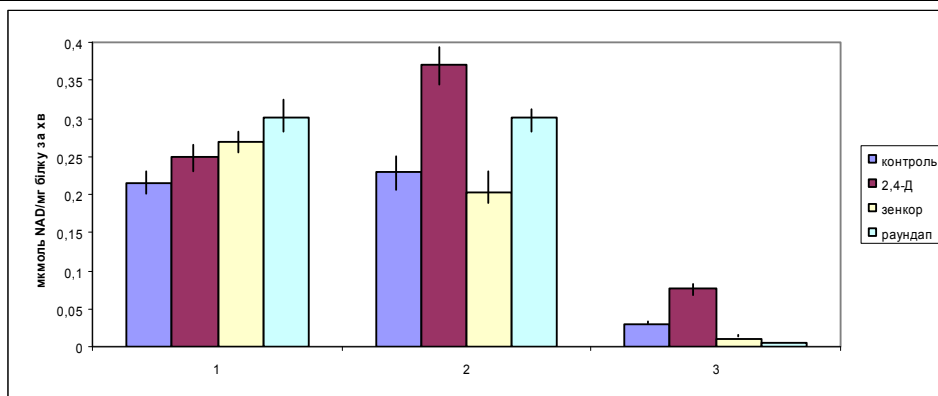


Рис. 1. Лактатдегідрогеназна активність в печінці коропа за дії гербіцидів ($M \pm m$, $n=5$)

Примітки: тут і на рис. 2-4: 1 – в цілісному організмі; 2 – в гомогенаті тканини; 3 – за дії на тканину

Активність фермента в клітинах печінки через 3 години експозиції становить $0,030 \pm 0,007$ мкмоль $NAD \cdot mg^{-1} \cdot білку \cdot хв.^{-1}$ і є значно нижчою за таку в печінці риби контрольної групи. Спостерігається активація ферменту за дії 2,4-Д ($0,076 \pm 0,008$ мкмоль $NAD \cdot mg^{-1} \cdot білку \cdot хв.^{-1}$) на відміну від зенкору та раундапу, які пригнічують активність фермента у три та шість разів відповідно.

Ферменти різних шляхів вуглеводного обміну по-різному реагують на дію пестицидів. Зокрема, лактатдегідрогеназа виявилась менш чутливою до гербіцидів, ніж малатдегідрогеназа та ізоцитратдегідрогеназа (рис. 2, 3), що може свідчити про стабільність перебігу гліколізу за інтоксикації.

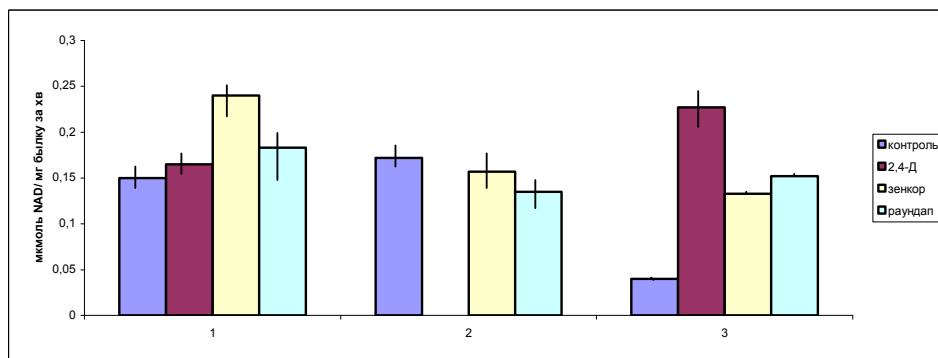


Рис. 2. Малатдегідрогеназна активність у печінці коропа за дії гербіцидів ($M \pm m$, $n=5$)

Малатдегідрогеназна активність в печінці коропа за дії гербіцидів відрізняється залежно від об'єкту дослідження. Так, при дії пестицидів на рибу на 14 добу експерименту [3] спостерігається активація ферменту незалежно від хімічної структури токсиканту. Додавання гербіцидів безпосередньо у реакційну суміш зменшує активність ферменту з $0,172 \pm 0,038$ мкмоль $NAD \cdot mg^{-1} \cdot білку \cdot хв.^{-1}$ в контролі до $0,157 \pm 0,070$ мкмоль $NAD \cdot mg^{-1} \cdot білку \cdot хв.^{-1}$ за дії зенкору і з $0,135 \pm 0,037$ мкмоль $NAD \cdot mg^{-1} \cdot білку \cdot хв.^{-1}$ під впливом раундапу. Додавання 2,4-Д до реакційної суміші повністю інгібувало активність ферменту. В ізольованій тканині печінки гербіциди викликають активацію ферментів. Найбільший вплив виявлено за дії 2,4-Д ($0,227 \pm 0,045$ мкмоль $NAD \cdot mg^{-1} \cdot білку \cdot хв.^{-1}$ в контролі проти $0,040 \pm 0,007$ мкмоль $NAD \cdot mg^{-1} \cdot білку \cdot хв.^{-1}$ – в експерименті). Зенкор та раундап також сприяли активації ферменту.

Ізоцитратдегідрогеназа за дії 2,4-Д активується більше, ніж у три рази.

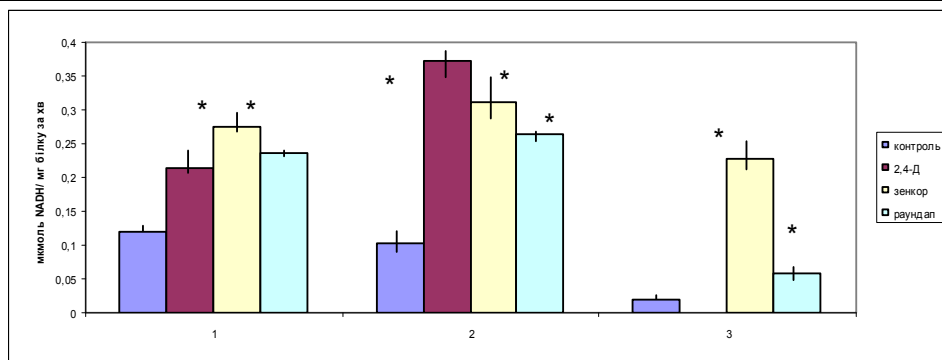


Рис. 3. Ізоцитратдегідрогеназна активність в печінці коропа за дії гербіцидів ($M \pm m$, $n=5$)

З даних, представлених на рис. 3, можна зробити висновок про надзвичайну чутливість ІЦДГ до гербіцидів як при експериментах на цілісному організмі, так і при безпосередньому впливі на фермент у гомогенаті тканини. При цьому зберігається тенденція до прискорення ферментної реакції незалежно від токсиканта. Найбільшу активацію ІЦДГ спричиняють зенкор (у 2,3 рази в цілісному організмі) і 2,4-Д (в 3,7 разів при дії у гомогенаті тканини). В препаративній тканині фермент активується за впливу зенкору в 11 разів порівняно з контролем, а за дії раундапу – у 2,5 рази. У випадку 2,4-Д активність ферменту не виявлена у жодному з дослідів.

Активність Г-6-ФДГ за дії гербіцидів зростає (рис. 4) в переважній більшості випадків.

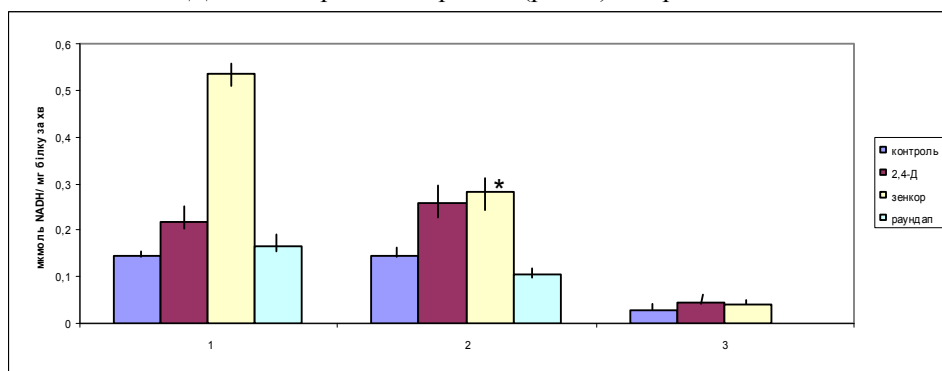


Рис. 4. Глюкозо-6-фосфатдегідрогеназна активність в печінці коропа за дії гербіцидів ($M \pm m$, $n=5$)

В обох випадках найбільшу зміну активності ферменту з усіх досліджених гербіцидів спричиняв зенкор (активація у 3,7 разів в результаті адаптації коропа і майже у 2 рази при дії в гомогенаті). 2,4-Д активує Г-6-ФДГ, а вплив раундапу на активність ферменту є різноспрямованим.

Висновки

1. Гербіциди викликають зміни активності ферментів вуглеводного та енергетичного обміну.
2. При внесенні гербіцидів у гомогенаті тканини печінки активність ферментів циклу Кребса зменшується.

1. Лукьяненко В. И. Экологические аспекты ихтиотоксикологии / В. И. Лукьяненко. – М. : ВО «Агропромиздат», 1987. – 240 с.
2. Мехед О. Б. Зміни активності ензимів кінцевих реакцій глюконеогенезу за дії факторів водного середовища у тканинах риб різних видів / О. Б. Мехед, В. О. Коваль, Б. В. Яковенко // Укр. біохім. журн. – 2010. – Т. 82, № 4. – С. 282.

3. *Хлебович В. В.* Акклимация животных организмов / В. В. Хлебович. – Ленинград : Наука, 1981. – 135 с.
4. Режим доступу: http://www.primer.ru/manuals/cytology/cultural.htm#first_cult
5. *Biochemica information.* – W.-Germany : Boehringer Manneheim GmbH, Biochemica, 1975.– Bd. 1, 2. – 167 p.
6. *Lowry O. H.* Protein measurement in the Folin phenol reagent / O. H. Lowry, N. I. Rosebrough , A. I. Farr, R. I. Rendall // J. Biol. Chem. – 1951.– Vol.193, № 1.– P. 265–275.

Б.В. Яковенко, А.П. Третьяк, О.Б. Мехед, С.Н. Деркач, Н.В. Чкана

Черниговский национальный педагогический университет имени Т.Г. Шевченко, Украина

АКТИВНОСТЬ НЕКОТОРЫХ ФЕРМЕНТОВ В ПЕЧЕНИ КАРПА ПРИ ДЕЙСТВИИ ГЕРБИЦИДОВ

Исследовали активность малатдегидрогеназы, изоцитратдегидрогеназы, лактатдегидрогеназы, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы печени карпа при действии гербицидов на целостный организм, в гомогенате печени и на препарированную ткань.

Ключевые слова: карп, зенкор, раундап, 2,4-Д, малатдегидрогеназа, изоцитратдегидрогеназа, лактатдегидрогеназа, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа

B.V. Yakovenko, A.P. Tretiak, O.B. Mekhed, S.N. Derkach, N.V. Chkana

T.G. Shevchenko Chernihiv National Pedagogical University, Ukraine

ACTIVITY OF SOME LIVER ENZYMES OF CARP IN HERBICIDE TOXICITY

Investigated the activity of liver enzymes of carp: glycolysis, Krebs cycle and pentose phosphate pathway in response to the herbicide toxicosis at organism, in the reaction mixture and the short-term cell culture.

Keywords: carp, zenkor, roundup, 2,4-D, malate dehydrogenase, isocitrate dehydrogenase, lactate dehydrogenase, glucose-6-phosphate dehydrogenase

Рекомендує до друку

В.З. Курант

Надійшла 03.02.2011